3rd INTERNATIONAL SEMINAR ON APTERYGOTA
R. Dallai editor

INFLUENCE DU TYPE DE NOURRITURE SUR LES SPECTRES ESTERASIQUES DU COLLEMBOLE *FOLSOMIA CANDIDA* W.

M. FERARD ET N. POINSOT-BALAGUER

Laboratoire d'Ecologie méditerranéenne Centre St-Jérôme, UA 1152, 13397 Marseille Cedex 13

INTRODUCTION

Une note très succincte de ASHER et SNIDER (1975) fait état de recherches sur les variations enzymatiques chez le collembole *Folsomia candida*. Trois aspects de ces variations sont mentionnés : les variations associées au cycle de mue et la production d'oeufs, les variations génétiques entre les individus et les variations entre populations. Le premier aspect est développé par les travaux de HART et ALLOMONG (1979) ; il y a une corrélation positive entre la taille des collemboles et le nombre de bandes d'estérases. Les variations des spectres estérasiques sont correlées avec les cycles de mue chez *F. candida* (GRIMNES, 1981). Certaines bandes disparaissent durant la période précédant la mue. DALENS et ROUSSET (1986, 1988) ont mis en évidence des variations quantitatives dans les isoenzymes estérasiques au cours du cycle de mue de *Hypogastrura boldorii*. Le troisième aspect, variations enzymatiques - interpopulations, a fait l'objet d'études sur les espèces *Lathriopyga longiseta* (FANCIULLI et al., 1986) *Thaumanura ruffoi* (FANCIULLI et al., 1986) et *Bilobella aurantiaca* (DALLAI et al. 1983). Aucune étude concernant les variations génétiques d'individus appartenant à une même population n'a été développée.

Le présent travail s'est intéressé aux variations enzymatiques liées à des alimentations différentes chez *Folsomia candida*.

I. MATERIEL

L'espèce *Folsomia candida* est une espèce parthénogénétique à fécondité très élevée. Les individus étudiés viennent tous d'une même femelle (1).

(1) Elevage entretenu au Museum National d'Histoire Naturelle par G. VANNIER.

Le tableau I donne le cycle de mue de cet animal (PALEVODY, 1974, PALEVODY et GRIMAL, 1976). Les étapes intermédiaires sont marquées par des évènements liés soit à la mue tégumentaire (exuviation), soit à la mue intestinale (alimentation pendant l'intermue et jeûne pré et post-exuvial). Les individus analysés sont des femelles adultes, prélevées durant la phase 3* et de la phase 4* dans les deux élevages.

TABLEAU I - Cycle de mue de *Folsomia candida*

Stade	Période	Description	Durée
Origine		Fin de l'oviposition.................................. (n)	
Phase 1	Intermue 1	Période d'alimentation. Tube digestif plein	4-5 jours
Phase 2	Jeûne pré-exuvial	Tube digestif vide	48-54 heures
M1		Exuviation 1	
Phase 3*	Intermue 2	Période d'alimentation. Tube digestif plein.	5 jours
Phase 4*	Jeûne pré-exuvial	Tube digestif vide	48-54 heures
M2		Exuviation 2	
Phase 5	Ponte	Alimentation partielle. Oviposition (n + 1)	24 heures
Nouvelle phase 1			

La maturité sexuelle se produit après la phase 5 (SNIDER 1971).

Les collemboles sont élevés à la température ambiante dans des boites en plastique dont le fond est recouvert d'un substrat composé de plâtre de Paris et de noir animal (1:1) (SNIDER, 1971 ; BOOTH, 1983). Ce support, avide d'eau, constitue un réservoir d'humidité et permet de maintenir une humidité relative de l'air,voisine de 100 %.

L'un des supports nutritifs est constitué d'une rondelle de bois et de feuilles d'orme réhydratées (TOUCHOT et al. 1983). La taille moyenne des animaux élevés sur ce milieu est 1,52 mm, et leur masse moyenne est 46 µg. L'autre nourriture est composée de levure en paillettes (GAYELORD), nutriment déjà utilisé par de nombreux auteurs (USHER et al., 1970 : SNIDER et BUTCHER, 1973; GRIMNES, 1981) par rapport aux animaux élevés sur orme, la taille moyenne et la masse des insectes sont plus importantes (L = 2,12 mm ; m = 125 µg).

II. METHODES

La méthode d'électrophorèse utilisée est l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide.

Les techniques développées ici, sont adaptées principalement des recherches faites par l'équipe BERGE, DALMASSO (INRA, Antibes - Communication personnelle) et JANATI (1979) sur les microélectrophorèses sur gel de polyacrylamide des nématodes.

L'électrophorèse est effectuée dans un appareil PHARMACIA, type Apparatus GE 2/4/LS. Le tampon cuve est le tris glycine à 10 %.

Après plusieurs tests montrant l'influence des conditions opératoires sur les zymogrammes (FERARD, 1987) les meilleures modalités pour l'étude individuelle des échantillons sont :

- solution d'extraction : tampon TRUDGILL et CARPENTER,
- échantillons centrifugés,
- épaisseur du gel : 250 µ
- pourcentage en acrylamide : 7 %

- pH du gel : 8,9. Dans quelques cas, pour examiner certaines zones, un gel à 7 % en acrylamide mais à pH 7,3 a été utilisé.

Les estérases *s. lato* peuvent être divisées grosso modo en trois classes principales (in AHMAD, 1970) :

- les A-estérases (arylestérases) ne sont pas inhibées par les faibles concentrations d'organophosphates mais elles hydrolysent ces composés.

- les C-estérases (acétylestérases) n'hydrolysent pas les organophosphates et ne sont pas inhibées par ces composés.

- les B-estérases sensibles aux faibles concentrations d'organophosphates. Elles sont divisées en deux groupes selon l'action de l'ésérine (carbamate) sur ces dernières.

- B'-estérases appelées aussi aliestérases sensibles à l'ésérine 10^{-2} M et à la chaleur. Elles hydrolysent les esters aliphatiques et aromatiques ; les lipases appartiennent à ce groupe.

- B" - estérases sensibles à l'ésérine 10^{-5} M. Elles hydrolysent les cholinesters (mais aussi les esters aromatiques).

Dans notre étude, nous nous intéresserons seulement aux B estérases.

III - RESULTATS

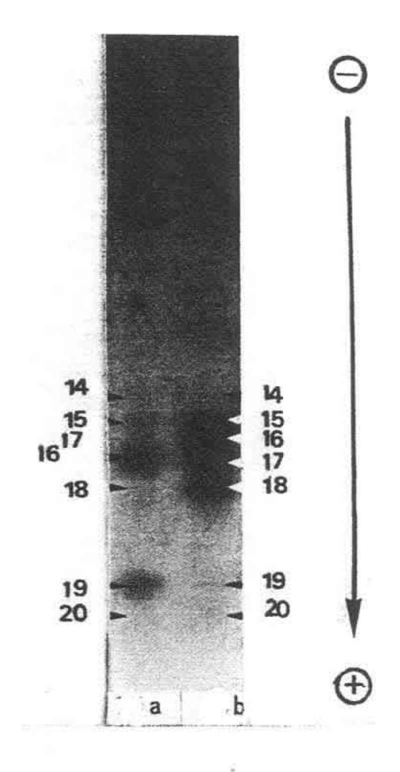
La comparaison porte sur les variations estérasiques d'animaux de la phase 3 dont tous les tubes digestifs sont pleins (repus) et de la phase 4 dont les tubes digestifs sont vides.

Les zymogrammes des animaux de la phase 3 et de la phase 4, élevés sur les deux types de substrat nutritif (levure et orme) sont analysés et comparés (**figure 1 et 2).**

Pour la phase 3,il n'existe pas de différences entre les deux zymogrammes pour les bandes n°1 9-9 bis (**figure 1 et 2**) Par contre, les bandes 10,11,12,13 sont à l'état de traces pour les animaux élevés sur orme. Dans ce dernier cas, la bande 15 est plus faible, la bande 18 est à l'état de traces et la bande 19 est plus intense. De plus, les bandes 16 et 17 n'existent plus mais sont remplacées par une bande intermédiaire, de forte intensité, notée 16^{17}. La bande 18 est plus intense chez les animaux élevés sur la levure, la 19 peu intense chez ceux élevés sur l'orme, tandis que la 20 est équivalente. Pour la phase 4, il n'existe pas de différences entre les deux zymmogrammes pour les bandes 1 à 11. Par contre, les bandes 12, 13, 14^{L}, 15^{L}, sont de plus faibles intensités chez les animaux élevés sur orme. Les bandes 16^{L} et 17^{L} sont remplacées par une seule bande de forte intensité notée

16^{17} L, et la bande 20^{L} n'existe pas chez les collemboles élevés sur orme (**figure 2**).

Figure 1 : Influence du type de nourriture sur les spectres enzymatiques des animaux de la <u>phase 3 (repus)</u>
(a) animal élevé sur <u>orme</u>
(b) animal élevé sur <u>levure</u>



<u>conditions opératoires</u>
1 femelle centrifugée par échantillon tampon Trudgill et Carpenter. Gel : épaisseur 250 microns, 7 % en acrylamide, pH 8,9. Révélations α naphtyl acétate + isopropanol + Fast blue RR. Essais réalisés sur 68 (48+20) individus.

L'utilisation d'un gel à 7 % en acrylamide, pH 7,3 n'apporte pas d'éléments nouveaux car les variations portent sur la partie inférieure du gel et cette portion n'est pas visible à ce pH. Une expérience complémentaire a permis de confirmer ces résultats.

Des animaux élevés du stade oeuf au stade M1 (exuviation 1) sur orme ont été placés sur la levure et inversement. Les insectes, nouvellement nourris par la levure, entretiennent les mêmes variations que ceux dont le seul nutriment a toujours été la levure. De même, les individus, récemment élevés sur orme, ont le zymogramme habituel des animaux nourris par ce substrat.

IV. DISCUSSION

Les activités des bandes des animaux élevés sur levure sont dans l'ensemble plus intenses que celles des animaux élevés sur orme. Ils sont en effet plus gros et confirment les observations de HART et ALLAMONG (1979). Il y a augmentation de l'activité estérasique à mesure que *F. candida* grandit.

Les variations observées en rapport avec le type de nourriture se trouvent principalement à l'anode.et concernent

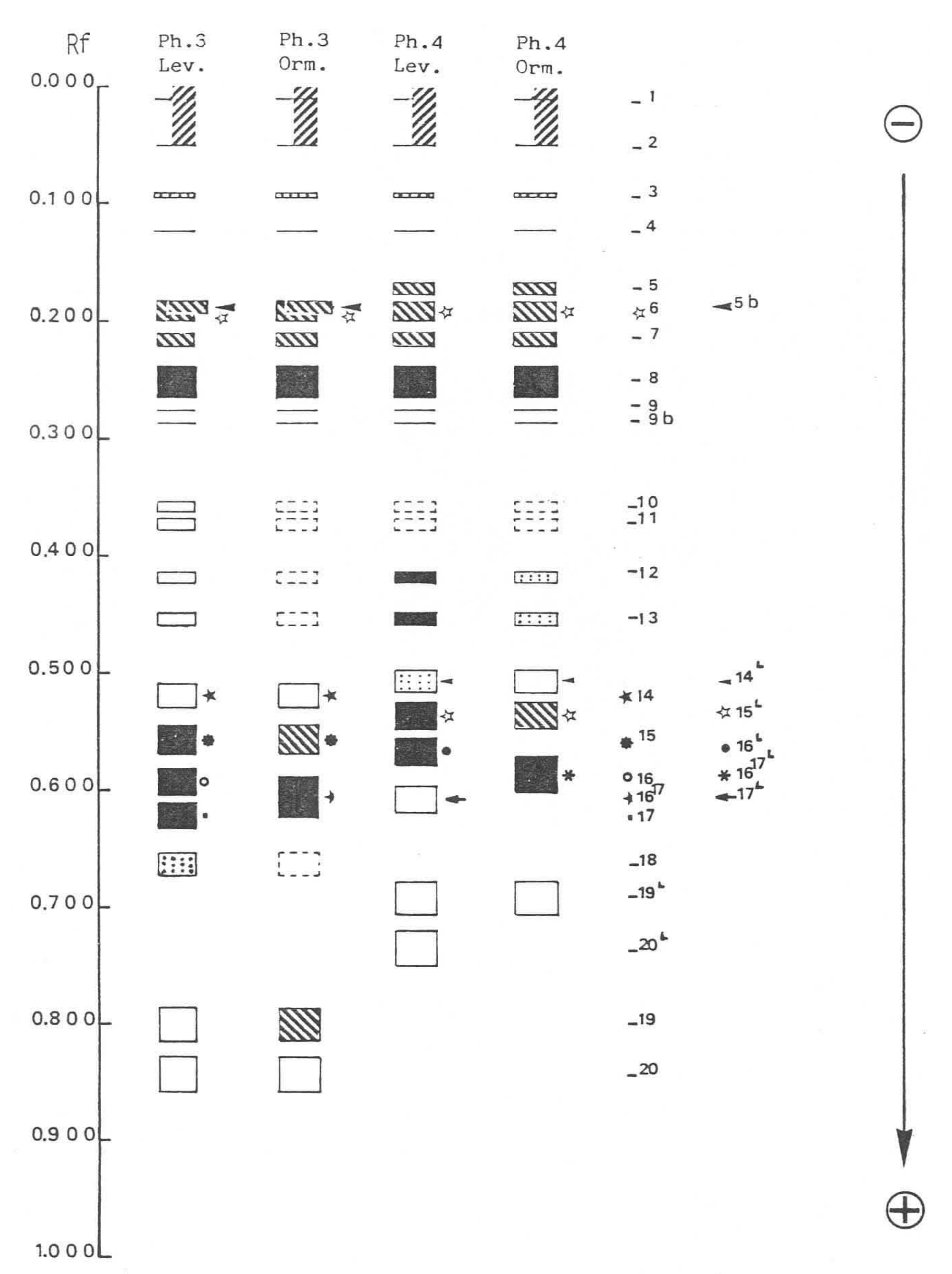


FIGURE 2 :REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES ZYMOGRAMMES ESTERASIQUES DE *FOLSOMIA CANDIDA* W. NOURRI DE LEVURE ET D'ORME (même conditions opératoires que sur la figure 1)

essentiellement l'ensemble des bandes 16 et 17 que ce soit dans la phase 3 ou dans la phase 4 pendant laquelle l'animal est à jeûn. Le tube digestif vide reproduit les mêmes variations estérasiques que lorsqu'il est plein, ce qui élimine l'hypothèse selon laquelle elles seraient dues à la nourriture elle-même

Des différences dans le diagramme des estérases (OXFORD, 1975) et certaines deshydrogénases (GILL, 1978) en liaison avec la fonction de nutrition ont été observées chez le gastéropode *Cepea nemoralis*. De même il y a des différences d'activité estérasique chez le copépode *Tisbe holothuriae* en fonction du régime alimentaire (KERAMBRUN et GUERIN, 1982). Les variations traduiraient la réponse du métabolisme des copépodes aux différentes conditions de nutrition. Ces conclusions reprennent les hypothèses de GILL (1978) sur le rôle différentiel des enzymes. En premier lieu, un nombre important d'isoenzymes différentes, codées par plusieurs loci pourrait, selon les besoins, être produit. En fonction des conditions environnementales, seules les isoenzymes les mieux adaptées seraient fabriquées. En second lieu, le contrôle allostérique interviendrait. Les isoenzymes auraient leurs propriétés et leurs conformations modifiées sous l'action des molécules allostériques. Les variations observées selon le type de nourriture chez les collemboles peuvent suggérer les mêmes hypothèses.

RESUME

La séparation des estérases par la méthode d'électrophorèse sur gel d'acrylamide révèle des variations qualitatives et quantitatives des isoenzymes associées avec le type de nourriture chez le collembole *Folsomia candida* W. Elles apparaissent, pendant la phase 3 (tube digestif plein) à partir de la bande 10. En particulier, les bandes 16 et 17 présentes chez les animaux élevés sur levure n'existent pas chez ceux élevés sur orme. Elles sont remplacées par une bande notée 16^{17}. Pendant la phase 4, les variations apparaissent à partir de la bande 12. La bande 16^{L} et la bande 17^{L} présentes chez les animaux élevés sur levure sont remplacées par une bande notée 16^{17L}. Les expériences qui consistent à intervertir les substrats confirment les résultats. Ces variations suggèrent la mise en jeu de mécanismes métaboliques traduisant une stratégie d'adaptation aux différentes conditions nutritionnelles.

SUMMARY

Polyacrylamide gel electrophoresis separations of esterases, of the collembola *Folsomia candida* W, revealed both quantitative and qualitative variations of isoenzymes associated with alimentary diet. They appeared, during phase 3 (feeding period 2) since the band 10. Particularly, bands 16 and 17 observable in animals when reared on yeast, did not occur in these reared on elm. They were replaced by one band called 16^{17}. During phase 4 (gut empty), variations appeared since the band 12. The bands 16^{L} and 17^{L} present in animals reared on yeast were replaced by one band called 16^{17L}. Experiments in which substrats were interchanged have confirmed resulting data. These changes suggest that collembolan bring into play an adaptative strategy to adapt their enzyme systems to different nutritrional conditions.

REFERENCES

AHMAD S, (1970)Localisation of aliesterase and acetylcholinesterase enzymes in various tissues of susceptible and organophosphate-resistant *Musca domestica* L. *Comp Gen Pharmac* 1 : 273-279.

ASHER J.H. et SNIDER R. (1975) Isoenzyme variation in laboratory populations of parthenogenetic soil Collembola, *Folsomia candida* (Willem). *Genetics* 80 (Suppl.) 3 : 510-11.

BOOTH R.G, (1983) Effects of plaster-charcoal substrate variation on the growth and fecundity of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae). *Pedobiologia* 25 : 187-195.

DALLAI R., FANCIULLI P.P. et PETRUCCI R. (1986) Enzyme diversity in the genus *Bilobella* (insecta collembola). *Rev Ecol Biol Sol* 23, 3 : 333-348.

DALENS H. & ROUSSET A. (1986) Polymorphisme physiologique de l'activité estérasique au cours du cycle de mue chez *Hypogastrura boldorii* (Collembola). 2nd Int. Sem. *Apterygota* R. Dallai ed : 181-186.

DALENS H. & ROUSSET A. (1988) Variations de l'activité estérasique chez des *Hypogastrura* du sous-groupe *tulbergi* (Collembola). *Rev Ecol Biol Sol* 25, 1 : 139-147.

FANCIULLI P.P., DALLAI R. et PETRUCCI R. (1985) A preliminary study on enzyme diversity in *Tetrodontophora bielanensis* (Waga) (Insecta collembola). *Rev Ecol Biol Sol* 22, 4 : 483-495.

FANCIULLI P.P., DALLAI R., PETRUCCI R. (1986) Enzymatic polymorphism in geographically isolated populations of *Thaumanura ruffoi*. 2nd Int. Sem. *Apterygota* R. Dallai ed. 197-202.

FANCIULLI P.P., DALLAI R., PETRUCCI R. (1986) Chromosomal and isozymic analysis in three populations of *Lathriopyga longiseta* . 2nd Int. Sem. *Apterygota* R. Dallai ed. 203-210.

FERARD M. (1987) Techniques électrophorétiques appliquées à l'étude des estérases et de certaines deshydrogénases (ADH, α6PD, G6PD, MDH, XDH) de *Folsomia candida* Willem (insecte, collembole). Localisation *in situ* des estérases. Thèse 3ème cycle. Université de Provence. 120 pp.

GILL P.D. (1978) Non-genetic variation in isoenzymes of lactate dehydrogenase of *Cepaea nemoralis*. *Comp Biochem Physiol* 60 B : 365-368.

GRIMNES K.A. (1981) Esterases in *Folsomia candida* (collembola : Isotomidae). Changes in isozyme titer during the molt cycle. *Pedobiologia* 21 : 341-345.

GRIMNES K.A. et SNIDER R.M. (1981).The analysis of egg production in four strains of *Folsomia candida* (Collembola). *Pedobiologia* 22 : 224-231.

HALE W.G. et ROWLAND J.P.C. (1977).Biochemical "fingerprints" as indicators of taxonomic status within the genus *Onychiurus*. *Rev Ecol Biol Sol* 14, 4 : 535-562.

HART J.W. et ALLAMONG B.D. (1979).The role of esterase zymograms in collembolan species determination. *Rev Ecol Biol Sol* 16, 2 : 235-240.

JANATI A. (1979).Contribution à l'étude des estérases chez les Meloidogyne (Nematoda, Tylenchida) Thèse Docteur-Ingén. Univ. Sci. Tech. Languedoc: 84 pp.

KERAMBRUN P. & GUERIN J.P. (1982).Variation des zymogrammes des esterases d'un Copépode harpacticoïde, *Tisbe holothuriae,* liées au régime alimentaire : éléments d'une stratégie adaptative vis à vis des conditions trophiques. *C R Acad Sci* Paris III, 294 : 29-39.

OXFORD G.S. (1975).Food induced esterase phenocopies in the snail *Cepea nemoralis*. *Heredity* 35 : 361-370.

PALEVODY C. (1974) Relations entre le cycle reproducteur et les mues chez *Folsomia candida* (collembole, Isotomides) - Application à l'établissement d'une chronologie relative du développement ovarien. *Ann Sci Nat Zool* 16 : 119-132.

PALEVODY C. et GRIMAL A. (1976).Variations cytologiques des corps allates au cours du cycle reproducteur du collembole *Folsomia candida*. *J Insect Physiol* 22 : 63-72.

SNIDER R. (1971) Laboratory observations on the biology of *Folsomia candida* (Willem) (Collembola : Isotomidae). *Rev Ecol Biol Sol* 10, 1 : 103-124.

SNIDER R. et BUTCHER J.W. (1973) The life history of Folsomia candida (Willem) (Collembola: Isotomidae) relative to temperature. *Great Lakes ent* 6, 4 : 97-106.

TOUCHOT F., KILBERTUS G. et VANNIER G. (1983).Rôle d'un collembole *(Folsomia candida)* au cours de la dégradation des litières de charme et de chêne en présence ou en absence d'argile. In "New Trends in Soil Biology). Ph LEBRUN et ed. Dieu Brichart, Ottignies-Louvain-La Neuve : 269.280.

USHER M.B., LONGSTAFF B.C. et SOUTHALL D.R. (1971).Studies on populations of *Folsomia candida* (Insecta collembola). The productivity of populations in relation to food and exploitation. *Oecologia* 7 : 68-79.